

PERTUMBUHAN DAN PERKEMBANGAN TUNAS KULTUR EMBRIO *Caryota no* Becc. (Shoot Growth and Development on Embryo Culture of *Caryota no* Becc.)

Djadja Siti Hazar Hoesen

Balitbang Botani Puslitbang Biologi - LIPI

ABSTRACT

Caryota no Becc, (fish-tailpalm) is considered vulnerable palm, Its population is declining from the habitat by destructive exploitation but also to some extent by local people who remove the edible apex or 'cabbage' as a vegetable and also obtain sago from the pith of the trunk, so kill the tree. Although its biological characteristics have not been fully studied, this species is also potentially for ornamental plant. Thus conservation measures should be taken to improve the status of this threatened species. Tissue culture techniques may provide ways either to propagate or to conserve *in-vitro*. Naturally *Caryota no* Becc. palm fruit after 20 years and they can germinate more than 3 months after sowing with low germination value. In this experiment, the tissue culture response of this species are studied using the explant of embryo from (relatively) young fruit (juvenility fruit). The effect of BA and 2,4D on the shoot growth, root growth and calluses was evaluated, while the evaluation of the effect of activated charcoal was discussed. The satisfactory results have not been achieved.

PENDAHULUAN

Marga *Caryota* termasuk keluarga Arecaceae (Palem-paleman) yang umumnya mempunyai perawakan yang berpotensi sebagai tanaman hias. Salah satu jenis dari marga ini adalah *Caryota no* Becc. yang telah dikelompokkan dalam daftar jenis tumbuhan yang langka dengan status rawan (Lucas and Syngé, 1978). Tumbuhan ini mempunyai tajuk yang indah dengan bunga yang indah pula terutama apabila bunganya sedang mekar. Bunganya tersusuh pada satu karangan bunga yang relatif besar. Selain sebagai tanaman hias, sagu yang berasal dari batangnya oleh sebagian penduduk di Kalimantan dimanfaatkan sebagai sumber karbohidrat pengganti makanan pokok pada saat musim paceklik dan keadaan ini diduga dapat mengurangi populasi tumbuhan tersebut di lapangan, padahal sementara ini cara budidayanya belum dikembangkan (Heyne, 1987).

Secara alami *Caryota no* memerlukan waktu 20 tahun untuk dapat menghasilkan buah. Tanaman ini berkembang biak dengan biji, dari setiap buahnya berisi 1-2 biji. Masa berkecambah biji secara alami memerlukan waktu yang relatif lama (Siregar, M.H. dkk, 1991; Utami dan Rachman, 1992). Keadaan yang de-

mikian apabila dibiarkan terus menerus tanpa adanya usaha pembudidayaan dan konservasi akan mengancam keberadaannya. Teknik kultur *in vitro* dapat dimanfaatkan dalam membantu usaha konservasi, dan cara perbanyakannya serta diharapkan dapat meningkatkan populasi suatu jenis tumbuhan. Teknik kultur *in vitro* ini diharapkan dapat pula berhasil untuk usaha perbanyakan dan konservasi dari *Caryota no* Becc, seperti halnya jenis-jenis dari suku Arecaceae lainnya yang telah berhasil diupayakan dengan teknik ini,

Penggunaan embrio dari buah muda merupakan sumber eksplan yang paling baik, terutama buah yang terbentuk 2-3 bulan setelah penyerbukan terjadi (Reynolds and Murashige, 1979).

Pada tulisan ini dilaporkan hasil pengujian respon kultur embrio, *Caryota no* Becc. yang meliputi pengujian tingkat konsentrasi sitokinin BA (Bensil adenin) bagi pertumbuhan tunasnya dan tingkat konsentrasi auksin 2,4D (dikloro fenoksi asetik asid) bagi pertumbuhan dan pembentukan akar serta kalusnya yang diharapkan dapat berdiferehiasi menjadi tunas majemuk. Dengan mengetahui respon kultur jaringan-nya maka aplikasi dari teknik ini untuk tujuan perbanyakan atau konservasi dapat dimantapkan.

BAHAN DAN METODA

Embrio yang digunakan berasal dari buah *Car- yota no* yang warna kulit buahnya masih berwarna hijau (relatif muda), endosperma bijinya masih agak lunak, embrionya berbentuk kerucut dengan diameter alasnya berukuran 0,3-0,5 mm; bahan tanaman ini berasal dari halaman kantor Herbarium Bogoriense Puslitbang Biologi, LIPI Bogor. Sebelum ditanam embrio-embrio tersebut disterilkan dulu dalam larutan clorox 10% (5,25% Natrium hipoklorid) selama 10-20 menit.

Medium dasar yang digunakan adalah formulasi garam anorganik MS (Murashige and Skoog, 1962) yang diberi tambahan 0,4 mg/l thiamin HCl; 100mg/ myo-inositol; 0,5 mg/l piridoksin HCl; 0,5 mg/l asam nikotinat; 2 mg/l glisin; 2.000 mg/l arang aktif; 20.000 mg/l gula pasir dan 8.000 mg/l agar bakto serta zat pengatur tumbuh sesuai perlakuan. Keasaman medium diatur dengan menggunakan pH meter hingga mencapai pH $5,7 \pm 0,1$ sebelum agar dicampurkan. Agar dilarutkan dengan cara dipanaskan bersama-sama dengan larutan media, kemudian larutan tersebut ditempatkan dalam botol-botol yang bervolume 100 ml dan setiap botolnya diisi sebanyak 35 ml media. Botol ditutup dengan aluminium foil dan diotoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi selama 25 menit.

Perlakuan percobaan meliputi:

M₀ (MS + arang aktif) - kontrol

M₁ (MS + arang aktif + 25 mg/l BA)

M₂ (MS + arang aktif + 50 mg/l BA)

M₃ (MS + arang aktif + 25 mg/l 2,4D)

M₄ (MS + arang aktif + 25 mg/l BA + 25 mg/l 2,4D)

M₅ (MS + arang aktif + 50 mg/ BA + 25 mg/l 2,4D)

M₆ (MS + arang aktif + 50 mg/ 2,4D)

M₇ (MS + arang aktif + 25 mg/l BA -l- 50 mg/l 2,4D)

M₉ (MS + arang aktif + 50 mg[^] BA + 50 mg/l 2,4D)

Percobaan ini diulang 5 kali. Pengamatan dilakukan setelah kultur berumur 12 minggu, dengan cara mengukur peubah panjang tajuk, jumlah daun dan kalus ataupun akar yang terbentuk. Dan dari nilai rata-ratanya dihitung nilai galat bakunya.

Kultur disimpan dalam ruangan dengan suhu 27-28 °C dan penyiaran dengan lampu TL 40 watt selama 12 jam. Pengamatan awal untuk melihat perkembangan embrionya dilakukan setiap minggu

sampai kultur berumur 8 minggu, dan selanjutnya pengamatan dilakukan setiap 4 minggu.

HASH DAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan pada minggu pertama, kultur mengalami pembengkakan dan terlihat adanya awal pertumbuhan kultur. Secara visual tampak bahwa pertumbuhan dan perkembangan embrio dipengaruhi oleh kehadiran zat pengatur tumbuh terutama sitokinin dalam medium, terlihat bahwa kultur yang diberi tambahan BA (25 mg/l dan 50 mg/l) tanpa 2,4D rata-rata dapat berkecambah kurang dari 2 minggu (8-10 hari) dari saat penyemaian, pada saat itu ditandai dengan munculnya epikotil. Hal ini terjadi karena sitokinin dapat menstimulasi pertumbuhan embrio dalam kultur *in vitro*., keadaan ini sesuai dengan hasil penelitian van Overbeek (1942) dalam Weaver (1972) yang mengemukakan bahwa pertumbuhan embrio dipengaruhi oleh air kelapa, yang salah satunya adalah mengandung hormon sitokinin alami.

Pengaruh perlakuan penambahan BA (25 mg[^] dan 50 mg[^]) tanpa 2,4D tampak pula memberikan respon yang positif pada kultur yang telah berumur 12 minggu, dalam hal ini ditunjukkan dengan nilai rata-rata tertinggi pada peubah panjang tajuk dan jumlah daun (daun ke dua telah membuka) (Tabel 1 dan 2; Gambar 1 dan 2). Di mana nilai rata-rata panjang tajuk meningkat pada kultur yang diberi perlakuan penambahan BA (25 mg/l) yaitu 6,98 cm dan BA (50 mg/l) yaitu 7,07 cm bila dibandingkan dengan kontrolnya yang hanya 5,15 cm. Respon perlakuan penambahan sitokinin terhadap pertumbuhan tunas ini terjadi pula pada kultur embrio *Pinanga javana* Bl. Pada percobaan tersebut perlakuan penambahan BA (50 mg/l) yang ditambah 2iP (1 mg/l) dan Kinetin (50 mg/l) memberikan nilai rata-rata tertinggi pada peubah panjang tajuknya (Hoesen dan Witjaksono, 1993). Sedangkan perlakuan penambahan BA (50 mg[^]) apabila dibandingkan dengan penambahan BA (25 mg/l) sedikit menurunkan nilai rata-rata peubah jumlah daunnya yaitu dari 1,83 menjadi 1,67; tetapi apabila dibandingkan dengan kontrolnya tidak mengalami penurunan, hal ini diduga konsentrasi BA (50 mg/l) telah melewati titik optimum pertumbuhan dan telah mengindikasikan adanya permulaan efek toksisitas. Perlakuan penambahan BA (25 mg/l dan 50 mg/l) ini tidak dapat membentuk akar.

Perlakuan penambahan 2,4D (25 mg/l) tanpa BA menurunkan nilai rata-rata peubah panjang tajuk dan jumlah daun apabila dibandingkan dengan kontrolnya, sedangkan penambahan BA (50 mg/l) berhasil membentuk kalus yang kompak berwarna putih kehijauan sampai hijau. Kalus-kalus semesta ini terbentuk pula pada kultur jaringan *Phoenix dactylifera*, *Vetch/a merrili*, *Baeis guineensis* dan *Cocos nucifera* yang diberi perlakuan 2,4D sampai konsentrasi 100 mg/l. Kejadian ini sesuai dengan teori Skoog and Miller (1957) yang menyatakan bahwa peranan auksin dalam morfogenesis adalah mengarah kepada pembentukan kalus atau akar. Tetapi kebutuhan zat tumbuh dari luar untuk morfogenesis tergantung dari kandungan hormon endogennya yang bervariasi dengan tipe tanaman dan eksplananya (Bhojwani & Razdan, 1983).

Perlakuan penambahan BA (25 mg/l dan 50 mg^a) yang dikombinasikan dengan 2,4D (25 mg/l dan 50 mg/l) menurunkan nilai rata-ratanya pada peubah panjang tajuk dan jumlah daunnya apabila dibandingkan dengan nilai rata-rata pada perlakuan BA (25 mg/l dan 50 mg^a) tanpa 2,4D. Hal ini mengindikasikan bahwa kehadiran auksin bersifat antagonis terhadap aktifitas sitokinin, karena kehadiran sitokinin dalam medium menyebabkan terurainya sitokinin endogen. Penguraian ini sejalan dengan peningkatan penambahan auksin sehingga aktifitas sitokinin menjadi berkurang dengan demikian pertumbuhan tunasnya terhambat (Palni, Burchand Horgan, 1988). Hal yang hampir sama terjadi pula pada kultur embrio rotan manau di mana peningkatan NAA sampai 2 mg/l yang dikombinasikan dengan BA 4 mg/l tanpa arang aktif kurang menguntungkan apabila dibandingkan dengan pertumbuhan tunas dari kultur yang ditanam dalam medium yang diberi tambahan NAA 1 mg/l yang dikombinasikan dengan BA konsentrasi yang sama (Gunawan, 1989).

Penggunaan arang aktif dimaksudkan untuk menyerap zat-zat beracun yang dikeluarkan eksplan selama pertumbuhannya. Pengaruh adanya arang aktif dalam medium teramati pula pada percobaan Weatherhead dalam Witjaksono (1991).

Karena planlet yang terbentuk tidak proporsional untuk dipindahkan pada media aklimatisasi, kemudian selanjutnya kultur dipindahkan pada media

untuk perakaran yaitu media MS yang diberi tambahan auksin NAA 1 mg/l dan sukrosa 40 mg/l karena NAA merupakan salah satu golongan auksin yang mempunyai peranan dalam memperbaiki pertumbuhan perakaran yaitu dalam proses pembentukan dan pemanjangan akar pada kultur. Penambahan sukrosa yang konsentrasinya lebih tinggi dari media semai dimaksudkan agar energi yang diberikan dapat memenuhi kebutuhan energi bagi pertumbuhannya, karena embrio muda dibandingkan dengan embrio dewasa lebih banyak membutuhkan energi terutama energi dari sukrosa (Monier dalam Pierik, 1987). Keadaan ini teramati pada penelitian kultur *in vitro* *Cocos nucifera* (Ashburner, Thompson and Burch, (1993).

Kalus yang terbentuk dipindahkan pada media MS tanpa hormon agar dapat berdiferensiasi menjadi tunas majemuk, tetapi kultur-kultur tersebut belum berhasil membentuk tunas walaupun telah 10 minggu dari saat pemindahan pada media tanpa hormon dan setiap 4 minggu kalus-kalus tersebut dipindahkan pada media yang segar dengan komposisi yang sama dengan medium semula. Hal ini dilakukan untuk menghindari kultur menjadi coklat (browning). Karena dari beberapa kultur kalus tersebut mempunyai kecenderungan menjadi coklat. Untuk mendorong adanya pembentukan tunas dari kalus, diupayakan dengan cara memindahkan kultur kalus tersebut pada medium dasar 1/2 bagian hara makro MS cair yang dikocok dan pada medium agar hara makro saja tanpa hormon. Tetapi kultur tersebut belum berhasil membentuk tunas.

Selanjutnya planlets yang morfologinya proporsional, yaitu tinggi tajuk 9-10 cm, jumlah daun 3-4 dan jumlah akar 4-5 dengan panjang akar sekitar 25 cm dipindahkan pada mediatanah campur pasir dan selalu dikontrol kelembabannya. Namun pemindahan ini belum berhasil dengan baik karena sebagian planlet menjadi busuk, hanya beberapa tanaman yang bertahan hidup sampai berumur sekitar 16 minggu sampai sekarang ini. Oleh karena perlu dicoba media tumbuh lainnya seperti halnya Jiffy 7 yang pernah dicoba untuk aklimatisasi planlet *Calamus manan* (Gunawan, 1989).

Tabel 1. Pengaruh perlakuan BA dan 2,4D terhadap panjang tajuk tunas kultur embrio *Caryota no* Becc. pada umur kultur 12 minggu.

	Perlakuan		Rata-rata panjang tajuk (cm) ± galat baku
	BAmg/	2,4D mg/	
M ₀	0	0	5,15±0,095
M ₁	25	0	6,98±0,075
M ₂	50	0	7,07±0,039
M ₃	0	25	4,05±0,046
M ₄	25	25	5,67±0,123
M ₅	50	25	5,85±0,082
M ₆	0	50	- *)
M ₇	25	50	4,43 ±0,081
M ₈	50	50	4,95±0,130

Keterangan: *)kalus

Tabel 2. Pengaruh perlakuan BA dan 2,4D terhadap jumlah daun tunas kultur embrio *Caryota no* Becc. pada umur kultur 12 minggu.

	Perlakuan		Rata-rata jumlah daun± galat baku
	BAmg/l	2,4D mg/	
M ₀	0	0	1,67±0,038
M ₁	25	0	1,83 ±0,030
M ₂	50	0	1,67±0,038
M ₃	0	25	1,00±0,000
M ₄	25	25	1,00±0,000
M ₅	50	25	1,00 ±0,000
M ₆	0	50	- *)
M ₇	25	50	1,00±0,000
M ₈	50	50	1,00±0,000

Keterangan: *) kalus

Tabel 3. Pengaruh perlakuan BA dan 2,4D terhadap jumlah akar tunas kultur embrio *Caryota no Becc.* pada umur kultur 12 minggu.

	Perlakuan		Rata-rata jumlah daun± galat baku
	BAmg/1	2,4D mg/1	
M ₀	0	0	1,40
M ₁	25	0	-
M ₂	50	0	-
M ₃	0	25	1,20
M ₄	25	25	1,00
M ₅	50	25	1,00
M ₆	0	50	- *)
M ₇	25	50	1,00
M ₈	50	50	1,80

Keterangan : *) kalus
- tidak membentuk akar

KESIMPULAN DAN SARAN

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa penambahan sitokinin BA (25 mg/1 dan 50 mg/1) ke dalam media MS yang ditambah arang aktif dapat meningkatkan pertumbuhan dan perkembangan tunas kultur embrio *Caryota no Becc.* Usaha untuk menghasilkan tunas majemuk antara lain dengan mencoba menumbuhkan melalui kultur kalusnya belum berhasil dan masih diupayakan.

Penelitian aklimatisasi planlets masih perlu diupayakan dengan cara memanipulasi medium tumbuh atau dikombinasikan dengan kondisi lingkungannya. Demikian pula dengan penelitian pemeliharaan kultur *in vitro* untuk tujuan penyimpanan plasma nutfah secara *exsitup&rh* pula diupayakan mengingat tumbuhan ini belum dibudidayakan dan telah dikelompokkan sebagai tumbuhan yang rawan.

DAFTAR PUSTAKA

Ashburner GR, Thompson **WK** and Burch JM. 1993. Effect of 6 - naphthalene acetic acid and sucrose levels on the development of cultured embryos of coconut. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 35,157-163.
Bhojwani SS and Razdan MK. 1983. *Plant tissue culture to theory and practice*, Elsevier Scientific Publishing Company Amsterdam.

Gunawan L.W, 1989. Propagation of rattan manau {*Calamus manan*) *Indonesian Journal of Tropical Agriculture.* 1(1), 40-43.
Heyne K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia* (I). Yayasan Sarana Wanajaya, Jakarta, him 445-447.
Hoesen DSH dan Wrtjaksono. 1993. Kultur Embrio *Pinanga javana* Bl. *Bulletin Kebun Raya Indonesia* 7, 89-93.
Murashige T and Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiology Plantarum* 15, 473-497.
Palni LMS,Bilrch L and Horgan R. 1988. The effect of auxin concentration on cytokinin stability and metabolism. *Planta* 174, 231 -234.
Pierik **RLM.** 1987. *In-vitro Culture of Higher Plants.* Martinus Nijhoff. Publisher. Netherlands, him 145.
Puspitaningtyas **DM.** 1992. Kultur embrio *Ceratolobus glaucescens* Bl. *Pros/ding Seminar Has/I Penelitian dan Pengembangan Sumber Daya Hayati 1991-1992 Puslitbang Biologi - LIPI.* him 287-293.
Reynolds JF and Murashige T. 1979. A sexual embryogenesis in callus cultures of Palms. *In Vitro* 15(5), 383-387.
Skoog F and Miller CO. 1957. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissue cultured *in-witro.* Symposium Society Experimental Biology 15. him 118-137.

Srinivasan C, Litz RE, Barker, J and Knut Norstog. 1985. Somatic embriogenesis and planlet formation from christmas palm callus. *Hort. Science* 20, 278-280.

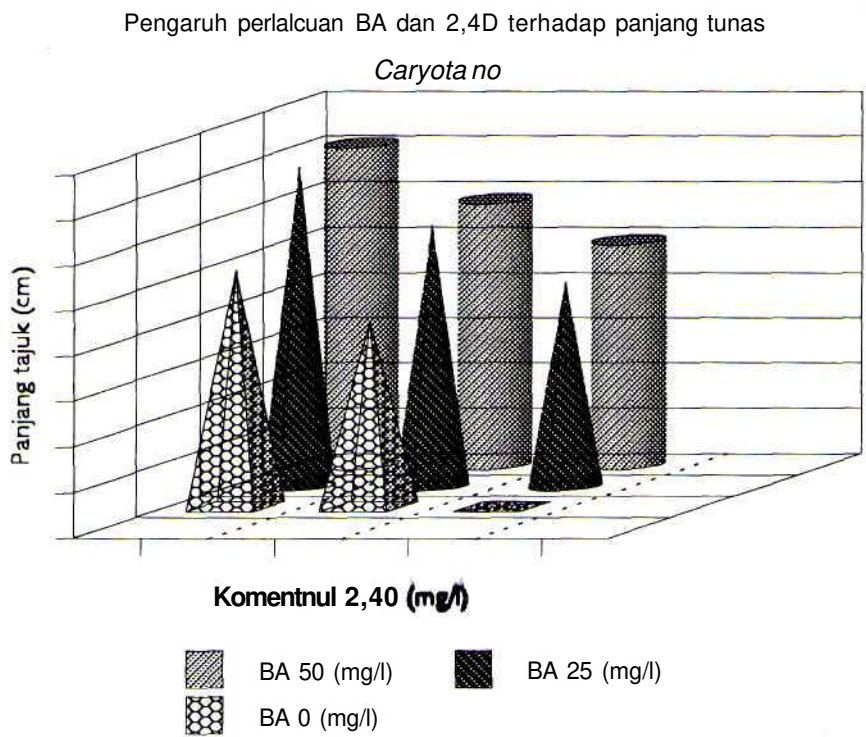
Siregar HM, Utami NW dan Siagian MH. 1991. Biologi bunga *Caryota no* Becc. *Bulletin Kebun Raya Indonesia* 7, 40-44.

Tisserat B. 1983. Tissue culture of Date Palms-A new method to propagate an ancient crop-and A short discussion. *Principes* 27, 105-1 17.

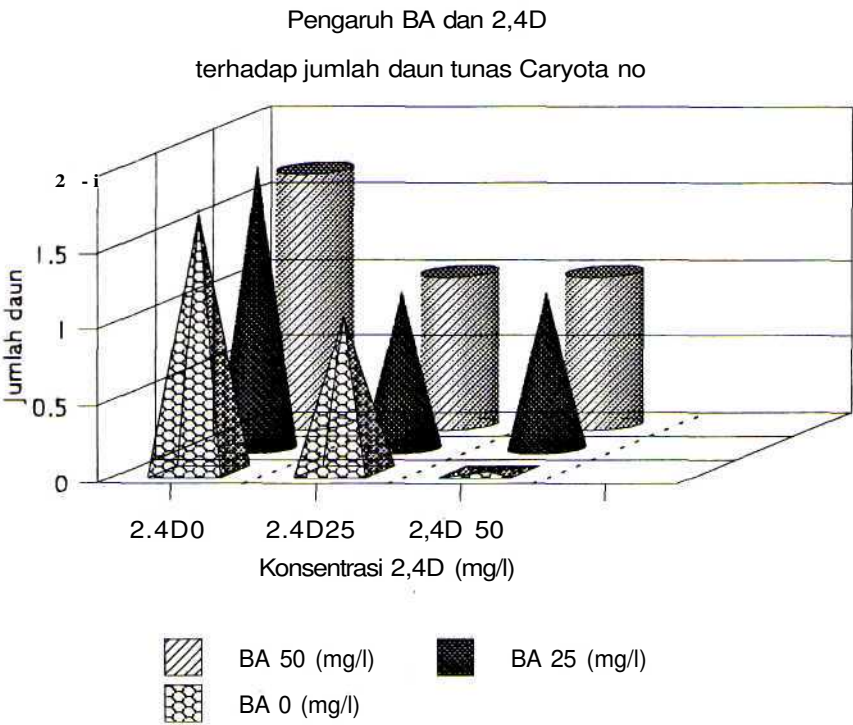
Utami NW dan Rachman E. 1992. Penelitian perkecambahan biji palem *Caryota no* Becc. Prosiding Seminar Hasil Penenelitian dan Pengembangan Sumber Daya Hayati Puslitbang Biologi -LIPI. him 36-42.

Weaver J. 1972. Plant growth substances in Agriculture. W. H. Freeman. San Fransisco. him 594.

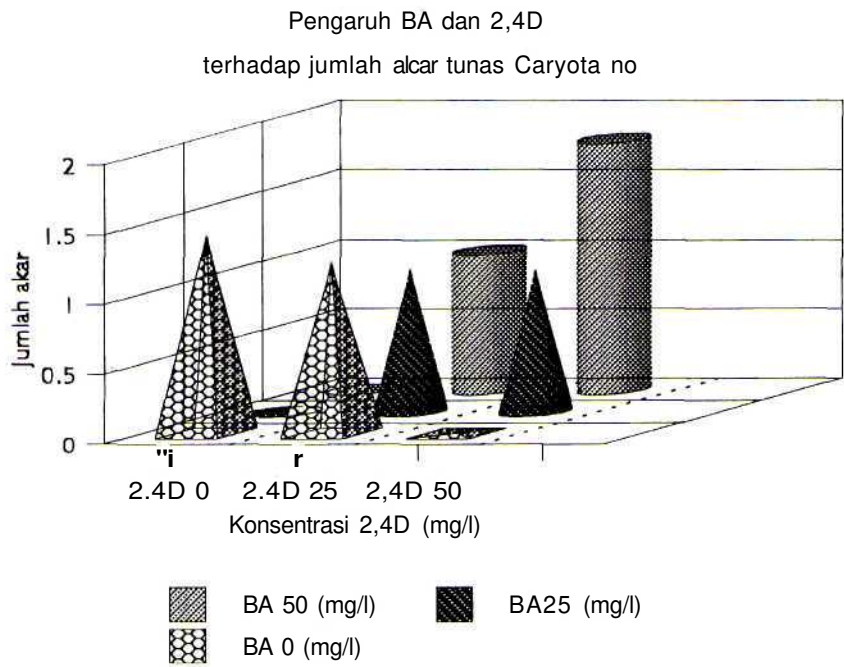
Witjaksono. 1991. Medium kultur jaringan apokat (*Persea americana* Mill.) cv. pinkerton. Prosiding Seminar Ilmiah dan Kongres Nasional Biologi X. him 41 1-417.



Gambar 1



Gam bar 2



Gam bar 3